

SUR LES DIFFÉRENTES FORMES DE *Glomerella* Spaul. et Schr. ET DE *Colletotrichum* Cda ISOLÉES DU COTONNIER

I. - Localisation et étude morphologique

par

J. C. FOLLIN

Phytopathologiste
Station Centrale de BAMBARI

Ce travail a été réalisé en 1967 et 1968 sur la Station de BAMBARI et au Laboratoire de Biologie expérimentale de la Faculté des Sciences d'ORSAY (Service de Cryptogamie).

INTRODUCTION

L'isolement, au cours de travaux de routine, de souches de *Colletotrichum* très diverses dans leur morphologie a conduit à réaliser des isoléments systématiques dans les différents organes du cotonnier à différents stades et à constituer une collection des différents types rencontrés.

Le but de ce travail était triple : tout d'abord voir s'il existe une spécialisation de certains types de souches, c'est-à-dire si la répartition est différente suivant les organes, ensuite définir l'évolution d'une population de *Glomerella* et de *Colletotrichum* en fonction de la croissance du cotonnier, enfin étudier la virulence des différentes formes en vue d'une étude génétique éventuelle du pouvoir pathogène à l'aide de formes à reproduction sexuée.

L'étude présente concerne les deux premiers points.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les isoléments ont été réalisés à partir de graines, de plantules, de tiges et de capsules des variétés D 9, B 50, et BJA 592 (*Gossypium hirsutum* L.). Les techniques sont les suivantes :

1. *Graines*. Les graines sont délintées à l'acide sulfurique, désinfectées au bichlorure de mercure à 0,1 % (10 mn) et mises en tubes sur culot de PDA ; ces isoléments sont faits sur graines entières ou décortiquées.

2. *Plantules*

— Plantules malades : les parties atteintes sont désinfectées deux minutes au bichlorure de mercure à 0,1 % et mises en boîte de Pétri sur eau gélosée ; les colonies sont ensuite repiquées sur PDA.

— Plantules saines : les plantules sont divisées en 3 parties, racines, tiges et feuilles ; ces organes sont désinfectés soit au xylol (bain rapide) et au bichlorure de mercure (2 mn), soit au bichlorure seul et mis sur eau gélosée comme précédemment (fig. 1).

3. *Tiges*. Les tiges non décortiquées sont désinfectées au xylol (bain rapide), alcool, bichlorure de mercure (10 mn), chlorure de chaux (20 mn) et mises sur gélose en boîte de Pétri ; les tiges décortiquées et les pétioles sont seulement désinfectés au bichlorure de mercure (10 et 3 mn).

4. *Capsules*. Les isoléments sont réalisés à partir de capsules momifiées, de capsules portant des lésions typiques et de capsules saines ; une partie de ces derniers isoléments concerne une étude réalisée par J. CAUQUIL (résultats non publiés) sur l'infection latente du cotonnier ; ils sont faits à partir de rondelles de péricarpe, du sommet de la capsule et de l'axe central ; dans tous les cas, le milieu d'isolement est l'eau gélosée.

Les souches sont identifiées sur bouillon de pomme de terre glucosé et gélosé (PDA Difco), sur décoction de haricot de Lima gélosé (Lima bean Agar Difco) et sur bouillon d'avoine gélosé.

Les thalles sont cultivés à l'étuve à 26 °C ou à la température du laboratoire (comprise entre 23 et 30 °C).

Trois séries d'isolement ont été réalisées :

A. Isoléments dans différents organes du cotonnier pris au hasard dans différents endroits, ceci dans le but de constituer une collection et d'étudier l'existence éventuelle d'une répartition suivant les organes.

B. Comparaison d'isoléments réalisés sur plantules portées par un champ en ouverture et par un champ en quatrième année de culture de coton, les deux parcelles d'observations étant contiguës.

C. Evolution d'une population parallèlement à l'évolution de la plante : isolement sur feuilles cotylédonaire, feuilles, tiges décortiquées, non décortiquées et sur capsules.

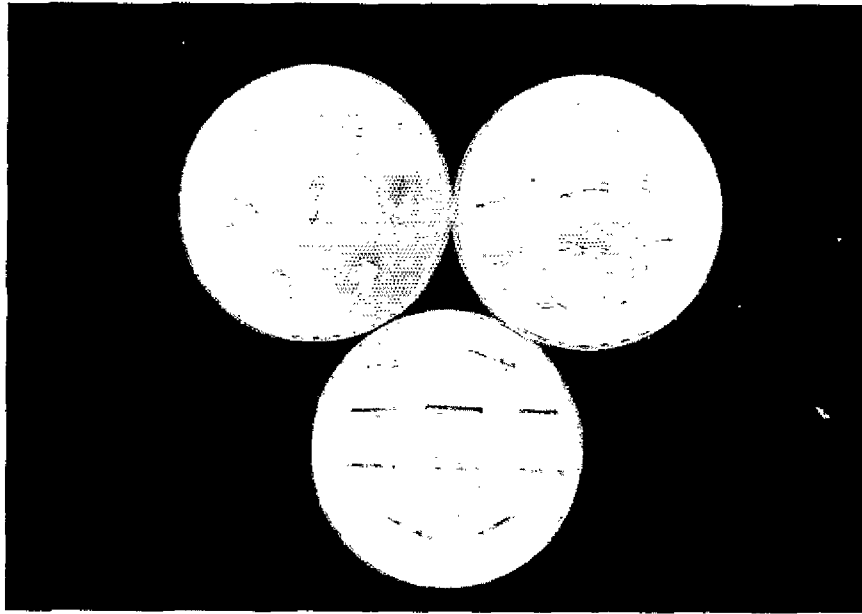


Fig. 1. — Mode d'isolement sur gélose des différentes parties d'une plantule, la technique est identique pour les capsules vertes (rondelles de péricarpe et sommets de capsules).

RÉSULTATS

Etude morphologique

Cette étude a un but pratique et non systématique; elle reste sommaire et a été réalisée afin de dégager, par quelques traits essentiels (couleur du mycélium, mode de reproduction asexué, mensuration des spores), les groupes principaux de *Glomerella* et *Colletotrichum* parasites du cotonnier. Le classement n'est d'ailleurs pas d'une rigueur absolue et certaines souches hors types n'ont pu être classées avec certitude, le mode de reproduction asexuée est le point qui, dans les cas douteux, a décidé de la répartition.

Les caractéristiques des différentes formes sont consignées dans les tableaux I et II et illustrées par les figures 2 et 3.

En première approximation, on peut distinguer deux grandes catégories d'isollements: ceux qui ne conduisent qu'au stade *Colletotrichum* et ceux qui produisent en plus des périthèces. Cette dernière catégorie comporte deux groupes principaux: les formes *Glomerella* avec peu ou pas de conidies et les formes en produisant abondamment.

Dans la pratique, le processus de classement est le suivant:

1. Repiquage sur PDA et LBA: les tubes sont laissés à la lumière naturelle ou artificielle, ceci permet de reconnaître les groupes I et II: il reste les souches produisant de nombreux acervules sur LBA.

2. Ces souches restantes sont repiquées sur avoine

et mises à l'obscurité, ce qui permet de distinguer les groupes III et IV.

La forme *Colletotrichum* à spores falciformes n'a pas reçu de nom d'espèce; ses mensurations peuvent la faire considérer comme une race de *C. indicum* Dast., mais nous l'avons également observée sur Poivron (*C. annuum*) et sur Gombo (*H. esculentus*); il peut s'agir tout aussi bien de *C. capsici* (Syd.) Butl. et Bir.

Répartition suivant les organes

Dans tous les cas, un témoin constitué par un échantillon des graines semées au champ est mis à germer sur banc de sable stérile de façon à déterminer l'infection primaire. La forme *C. gossypii* est seule isolée et provoque généralement la mort de la plantule; cette forme est certainement la seule à infecter les graines à l'intérieur.

Le tableau III donne les résultats principaux. Les séries C, D et H ont été réalisées sur plantules d'un champ portant des cotonniers pour la troisième année consécutive. Les organes sont désinfectés de deux manières: au bichlorure de mercure (série C et H), au xylol, puis au bichlorure de mercure (série D).

Sur plantules necrosées et dans les graines, on ne trouve que la forme imparfaite typique *C. gossypii* South., sur lésions de capsules et sur capsules momifiées, par contre, les deux formes sont trouvées: la forme *Glomerella* plus fréquemment que la forme imparfaite comprenant *C. gossypii* et la forme *Colletotrichum* à spores falciformes.

PLANCHE I

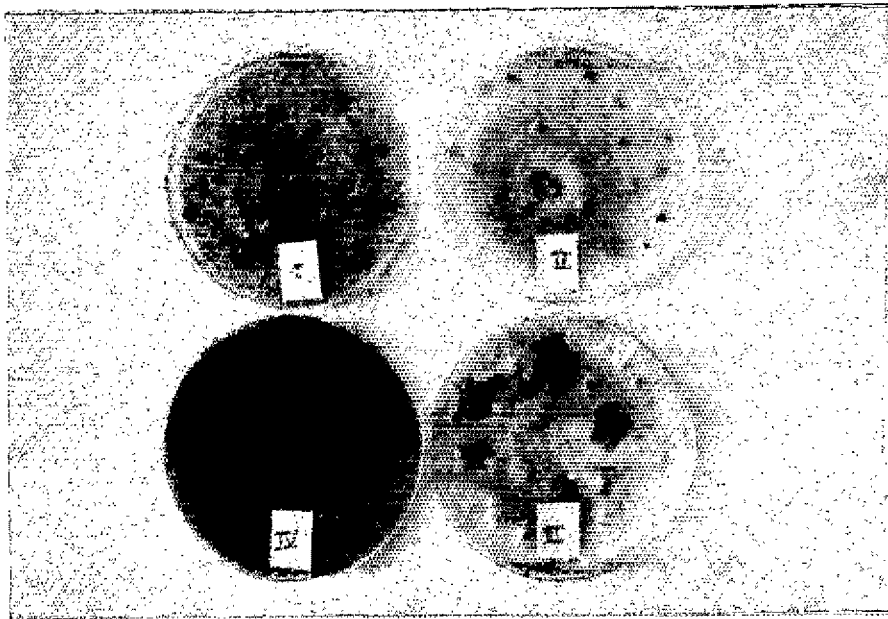


Fig. 2. — Aspect des quatre formes de *Glomerella* sp. sur milieu P.D.A.

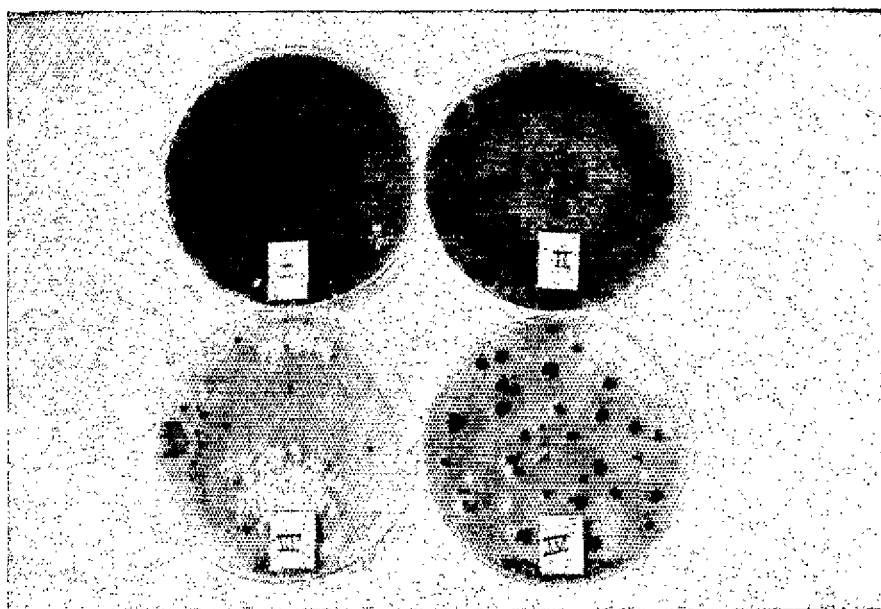


Fig. 3. — Aspect des quatre formes de *Glomerella* sp. sur milieu avoine.

Tableau I. — *Caractéristiques essentielles des différentes formes de Glomerella isolées du cotonnier et de Colletotrichum gossypii South.*

	Mycélium	Forme imparfaite	Forme parfaite	Forme des spores
<i>Glomerella</i> Groupe I	PDA : Myc. aérien gris acier, parfois reflet orange. LBA : Myc. ras, blanc terne. Avoine : Myc. ras, gris pâle.	Conidies rares, cependant présence d'acervules avec des soies bien différenciées (3 à 4 par acervule).	PDA : périthèces en glomérules. LBA : périthèces en glomérules. Avoine : per. en glomérules et par groupe de 4 à 5.	Conidies cylindriques arrondies aux deux extrémités. I présente parfois des conidies apiculées.
Groupe II	PDA : Myc. aérien blanc à jaune milieu ocre jaune à orange. LBA : Myc. ras blanc terne. Avoine : Myc. ras gris pâle.	Identique à I.	PDA : identique à I. LBA : glomérules plus abondants que I. Avoine : identique à I.	Ascospores arquées en forme de croissant. Les spores de IV, à largeur plus faible sont de forme plus élancée.
Groupe III	PDA : Myc. aérien vert clair puis foncé. LBA : myc. ras blanc. Avoine : myc. blanc couvert d'acervules.	Sporulation abondante à la lumière et à l'obscurité. Acervules sans soies.	PDA : per. en glomérules. LBA : glomérules et per. isolés. Avoine : glomérules rares.	
Groupe IV	PDA : myc. aérien vert foncé. LBA : myc. ras blanc terne. Avoine : myc. ras gris acier.	Acervules sans soies et conidies abondantes dans les cultures exposées à la lumière.	PDA : per. en glomérules. LBA et avoine : glomérules à l'obscurité, glomérules et périthèces isolés à la lumière.	
<i>Colletotrichum gossypii</i>	PDA : myc. aérien vert foncé à noir. LBA : myc. ras blanc. Avoine : myc. ras, gris pâle à gris acier.	Sporulation abondante surtout sur LBA et avoine, présence de soies irrégulières sur LBA.		Conidies ovoïdes à piriformes arrondies au bout, droites, souvent apiculées à la base et étranglées au milieu.

Tableau II. — *Dimensions en microns des spores de Glomerella et Colletotrichum isolés de cotonniers (le milieu de culture est constitué par une décoction gélosée de flocons d'avoine).*

	Conidies	Ascospores
<i>Glomerella</i> I	13,0 × 3,5 (9,0-15,0) × (3,0-4,5)	15,9 × 4,2 (14,4-19,2) × (3,6-4,8)
II	—	15,1 × 4,0 (13,8-17,4) × (3,6-4,8)
III	12,1 × 3,5 (10,2-15,4) × (3,0-4,0)	15,1 × 3,6 (13,2-17,6) × (2,2-4,2)
IV	11,5 × 3,3 (10,2-14,4) × (3,0-3,6)	15,2 × 3,5 (13,2-18,0) × (2,4-4,2)
<i>Colletotrichum gossypii</i>	14,4 × 3,1 12,0-19,8) × (2,4-4,2)	—
<i>Colletotrichum</i> sp.	12,6 × 3,2 (10,2-15,0) × (3,0-3,6)	—
<i>Colletotrichum</i> à spores falciformes	23,0 × 2,9 (26-20,4) - (2,4-3,0)	—

Tableau III. — Répartition des différentes formes de *Glomerella* et de *Colletotrichum* en fonction du lieu d'isolement.

Lieux d'isolement	Nombre d'isolements	Forme imparfaite	Forme parfaite et f. p. + f. imp.
GRAINES			
décortiquées	60	1	—
non décortiquées	60	3	—
PLANTULES A RACINES NÉCROSÉES (lésions typiques d'antracnose)	19	19	—
PLANTULES SAINES			
Série C :			
racines	130	5	2
tiges	130	3	—
feuilles	130	3	20
Série D :			
racines	130	1	—
tiges	130	2	—
feuilles	130	1	—
Série H : feuilles	130	6	15
TIGES - Infection latente	400	—	4
CAPSULES			
Série L :			
lésions typiques d'antracnose ..	14	4	10
Série M :			
capsules momifiées	30	3	5
Série N :			
infection latente de la capsule	100	1	35

En infection interne, c'est la forme parfaite qui est le plus souvent isolée; rare dans les tiges, elle est particulièrement abondante dans les feuilles et les téguments des capsules.

Importance suivant le précédent cultural (tableau IV)

Deux séries d'isolements sur cotonniers portés par un champ en ouverture montrent l'augmentation de la population de *Glomerella* dans le sol; celle-ci passe de 36 %, par rapport au nombre de champignons isolés, à 78,6 % dans le champ en quatrième année de culture. Par contre, la situation des formes *Colletotrichum* n'évolue pas.

Evolution dans la plante (tableau V)

Ces résultats confirment les précédents. La population de *Glomerella* est particulièrement abondante en infection interne des capsules et des feuilles; elle est plus rare dans les tiges et limitée aux parties non encore lignifiées. Le vieillissement des tiges favorise d'autres champignons, en particulier des *Phoma* et un *Phomopsis* sp. très fréquemment isolé.

Dans les parties non encore lignifiées, l'infection

reste superficielle comme le montrent les isolements réalisés à partir de pétioles.

Tableau IV. — Fréquence d'isolement des formes *Glomerella* et *Colletotrichum* de plantules (feuilles cotylédonaire) portées par un champ en ouverture et par un champ cultivé en coton pour la quatrième année consécutive.

	Champ en ouverture	Champ en 4 ^e année
Nombre d'isolements	170	170
Nombre d'isolements positifs	38	61
Nombre de <i>Glomerella</i> et de <i>Colletotrichum</i>	14	48
Groupe I	6	17
Groupe II	0	12
Groupe III	2	11
Groupe IV	5	6
forme imparfaite typique	1	2
% <i>Glomerella</i> par rapport au nombre d'isolements	8,2	28,2
% <i>Glomerella</i> par rapport au nombre d'isolements positifs	36,8	78,6

Tableau V. — Répartition des différentes formes parfaites et imparfaites en fonction de l'âge du cotonnier.

Lieux d'isolement	Nombre d'isollements réalisés	Nombre d'isollements positifs	Forme parfaite et f.p. + f. imparfaite	F. imparfaite
<i>Plants de 10 jours</i>				
Feuilles cotylédonnaires	170	61	46	2
<i>Plants de 4 semaines</i>				
Derniers entrenœuds	69	9	2	—
Dernières feuilles (6 ^e)	125	12	3	—
<i>Plants de 2 mois</i>				
Feuilles vers le sommet	90	50	41	—
Pétioles	90	13	7	—
<i>Plants de 2,5 mois</i>				
Bas de tiges	45	43	1	—
Bas de tiges décortiquées	45	3	—	—
Avant-derniers entrenœuds	45	19	7	—
<i>Plants de 3 mois</i>				
Capsules				
• Sommets	100	48	29	4*
• Pédoncules	50	38	21	—
• Péd. décortiqués	50	16	—	—

* 1 souche à spores falciformes.

Tableau VI. — Répartition dans les groupes I, II, III et IV des différentes souches de *Glomerella* observées.

Lieux d'isolement	Nombre de souches observées	Groupe I %	Groupe II %	Groupe III %	Groupe IV %
Feuilles cotylédonnaires	72	47,2	23,6	16,6	12,6
Feuilles	40	27,5	62,5	5,0	5,0
Tiges non aoutées et pétioles de feuilles	14	35,7	42,3	—	21,5
Capsules :					
• Sommets	63	30,3	23,8	19,0	26,9
• Pétioles	21	19,0	62,0	—	19,0
Capsules momifiées et capsules avec lésions externes	15	26,6	—	46,8	26,6

Les formes *Colletotrichum* sont isolées beaucoup plus rarement et seulement de plantules et de capsules.

Répartition des différentes formes de *Glomerella* (tableau VI)

En infection interne, ce sont les formes I et II qui sont le plus fréquemment isolées : par contre, la situation est inversée lorsqu'il s'agit d'isollements à partir de capsules lésées ou de capsules momifiées, ce sont alors les formes possédant la forme imparfaite et sporulant abondamment (groupes III et IV) qui prédominent.

DISCUSSION

Une première constatation est qu'il n'y a pas de répartition particulière suivant les organes : des formes parfaites et imparfaites sont isolées de racines, de tiges et de capsules ; par contre, on peut constater une spécialisation particulière ; en effet, dans les cas de lésions typiques sur plantules et à l'intérieur des graines, on isole toujours la forme imparfaite typique de l'anthracnose, de même que dans le cas d'isolement sur plantules désinfectées très sévèrement par un bain dans le xylol qui détruit les organismes d'une façon plus profonde que le traitement au bichlorure de mercure. Il semble

donc pour les plantules que *C. gossypii* soit spécifique des nécroses et des infections internes profondes, infection interne ou début d'attaque encore invisible à l'œil nu.

Des plantules désinfectées au bichlorure de mercure, on isole toutes les formes. Les formes *Glomerella* correspondraient à une infection interne superficielle. Des plants plus âgés, on n'isole ces formes que des parties non encore lignifiées, et il est probable non seulement qu'elles sont incapables de franchir le cambium lorsque la structure est secondaire, mais qu'elles restent également superficielles dans les parties vertes comme le montrent les isollements à partir de pétioles.

Dans le cas des capsules, la situation est différente. Il est en effet très courant d'observer la forme parfaite sur des lésions typiques d'anthracnose, ce qui ne démontre d'ailleurs pas le caractère de parasite primaire, les capsules pouvant être soumises à des déprédations multiples (chenilles, piqures d'Hémiptères...). Par ailleurs, le grand nombre de formes *Glomerella* isolé des téguments de la capsule en général et de ceux de l'apex en particulier indique qu'il existe là une population parasite prête à entrer dans la capsule au moindre défaut d'étanchéité et à y provoquer une pourriture.

Enfin, la fréquence des formes *Glomerella* dans les isollements réalisés à partir de feuilles cotylédonnaires et leur multiplication avec la culture du cotonnier montrent que celles-ci peuvent assurer leur survie dans le sol d'une année sur l'autre.

CONCLUSION

Cette étude montre la grande diversité des formes de *Glomerella* et de *Colletotrichum* isolées du cotonnier mais reste descriptive et soulève deux questions fondamentales :

1. Quelles sont les formes pathogènes et les formes seulement parasites ?

2. Existe-t-il une filiation entre les différents types isolés ? En particulier, la forme typique *C. gossypii* résulte-t-elle de l'évolution d'une des formes *Glomerella* décrites ?

Une étude du pouvoir pathogène est nécessaire pour compléter ce travail en essayant d'apporter une réponse à ces deux questions.

RÉSUMÉ

Des isollements réalisés dans les différents organes du cotonnier indiquent l'existence d'une grande diversité de forme de *Colletotrichum* : la forme *C. gossypii* South., une forme à petites spores cylindriques, une forme à spores falciformes, et de *Glomerella* : quatre grands groupes dont deux possédant en plus la forme imparfaite et très voisins macroscopiquement de *C. gossypii* mais à conidies plus courtes (groupes III et IV).

La répartition est très différente suivant les organes et peut se résumer ainsi :

Graines

(Infection interne) : *C. gossypii* South.

Plantules

— Nécrosées : *C. gossypii*.

— Saines : *Glomerella* sp. (groupe I et II surtout) 70 à 95 % ; *C. gossypii* 5 à 20 % ; *Colletotrichum* sp. 0 à 10 %.

Plants

— Parties lignifiées : Isolement rare d'une quelconque de ces formes.

— Parties vertes (feuilles, pétioles, tiges non acouées) : *Glomerella* sp. (groupes I et II surtout).

Capsules

— Infection interne des téguments : *Glomerella* sp. (groupes I et II surtout) ; *C. gossypii* plus rarement ; *C. à spores falciformes* : très rarement.

— Capsules momifiées et capsules présentant une pourriture externe : *Glomerella* sp. (groupes III et IV surtout) ; *C. gossypii* ; *C. à spores falciformes* : plus rarement.

Cette étude soulève deux problèmes importants : celui du pouvoir pathogène des différents organismes isolés et la filiation éventuelle de *C. gossypii* avec certains types de *Glomerella*.

SUMMARY

Some isolations realized from various cotton organs indicate the existence of a great diversity of *Colletotrichum* forms : the *C. gossypii* South. form, a form with cylindrical small spores, a form with falciform spores, and *Glomerella* : four large groups two of which possessing besides the imperfect form and macroscopically very closely related with *C. gossypii* but with shorter conidia (groups III and IV).

The distribution is very different according to the organs and can be summarized as follows.

Seeds

(Internal infection) : *C. gossypii* South.

Seedlings

— Necrosed : *C. gossypii*.

— Healthy : *Glomerella* sp. (especially groups I and II) 70 to 95 % ; *C. gossypii* 5 to 20 % ; *Colletotrichum* sp. 0 to 10 %.

Plants

— Lignified parts : Rare isolation of anyone of these forms.

— Green parts (leaves, petioles, non lignified stems) : *Glomerella* sp. (especially groups I and II).

Bolls

— Internal infection of teguments : *Glomerella* sp. (especially groups I and II) ; *C. gossypii* more rarely ; *C. with falciform spores* : very rarely.

— Mummified bolls and bolls displaying external rot : *Glomerella* sp. (especially, groups III and IV) ; *C. gossypii* ; *C. with falciform spores* : more rarely.

This study sets two important problems : that of the pathogenic power of various isolated organisms and the eventual filiation of *C. gossypii* with some *Glomerella* types.

RESUMEN

Aislamientos realizados en los diferentes órganos del algodónero indican la existencia de una gran diversidad de forma de *Colletotrichum* : la forma *C. gossypii* South., una forma con pequeñas esporas cilíndricas, una forma con esporas falciformes, y de *Glomerella* : cuatro grandes grupos de los cuales dos poseen además la forma imperfecta y muy próximos macroscópicamente de *C. gossypii*, pero con conidios más cortos (grupos III y IV).

La repartición es muy diferente según los órganos y pueda resumirse así :

Simientes

(Infección interna) : *C. gossypii* South.

Plántulas

— Con necrosis : *C. gossypii* South.

— Sanas : *Glomerella* sp. (Grupo I y II sobretudo) 70 a 95 % ; *C. gossypii* 5 a 20 % ; *Colletotrichum* sp. 0 a 10 %.

Plantas

— Partes lignificadas : Aislamiento raro de una cualquiera de esas formas.

— Partes verdes (hojas, pecíolos, tallos no madurados) : *Glomerella* sp. (Grupo I y II sobretudo).

Cápsulas

— Infección interna de los tegumentos : *Glomerella* sp. (Grupo I y II sobretudo) ; *C. gossypii* más raramente ; *C. a esporas falciformes* : muy raramente.

— *C. momificados* y *C. presentando una podredumbre externa* : *Glomerella* sp. (Grupo III y IV sobretudo) ; *C. gossypii* ; *C. a esporas falciformes* : más raramente.

Este estudio plantea dos problemas importantes : el del poder patógeno de los diferentes organismos aislados y la filiation eventual de *C. gossypii* con ciertos tipos de *Glomerella*.